

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
29 janvier 2004 (29.01.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2004/009052 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ : **A61K 7/48**

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2003/002109

(22) Date de dépôt international : 7 juillet 2003 (07.07.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
02/08992 16 juillet 2002 (16.07.2002) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : **LABORATOIRES DE BIOLOGIE VEGETALE YVES ROCHER** [FR/FR]; La Croix des Archers, F-56201 La Gacilly (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : **LUBRANO, Christian** [FR/FR]; 16, rue du Docteur Vuillième, F-92130 Issy les Moulineaux (FR). **ROBIN, Jean-Renaud** [FR/FR]; 24, rue Circulaire, F-92000 Nanterre (FR).

(74) Mandataires : **BERNASCONI, Jean** etc.; Cabinet Lavoix, 2, Place d'Estienne d'Orves, F-75441 Paris Cedex 09 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: COSMETIC COMPOSITION COMPRISING UBIQUITIN

(54) Titre : COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT DE L'UBIQUITINE

(57) Abstract: The invention relates to a cosmetic composition comprising ubiquitin in combination with a cosmetically-acceptable medium.

(57) Abrégé : L'invention concerne une composition cosmétique comprenant de l'ubiquitine en association avec un véhicule cosmétiquement acceptable.

Composition cosmétique comprenant de l'ubiquitine

La présente invention concerne une composition cosmétique comprenant de l'ubiquitine, utile notamment pour protéger la peau des agressions extérieures et lutter contre le vieillissement cutané.

L'ubiquitine (Ub) est une petite protéine de 76 acides aminés. Cette protéine est retrouvée dans tous les organismes eucaryotes, et est hautement conservée d'une espèce à l'autre. Ainsi, il n'y a que trois différences dans la séquence d'ubiquitine de levure comparée à la séquence humaine.

Protéine ubiquitaire, elle est impliquée dans plusieurs processus cellulaires.

L'ubiquitine est en particulier impliquée dans la régulation de protéines. Sa conjugaison à des protéines anormales ou des protéines à éliminer constitue un signal de destruction par certains systèmes cellulaires, tels que le système protéasome 26, qui assurent ensuite la dégradation de ces protéines.

L'ubiquitine est en outre considérée comme une HSP (« Heat shock Protein »), dans la mesure où elle est synthétisée en cas de stress cellulaire.

Les auteurs de la présente invention proposent maintenant d'utiliser cette protéine dans le domaine de la cosmétique pour augmenter le seuil de tolérance de la peau vis-à-vis des stress induits par des agressions externes (U.V., pollution) et pour lutter contre le vieillissement cutané.

Un des effets recherchés est notamment de protéger les kératinocytes, cellules de l'épiderme, et les fibroblastes, cellules du derme, qui produisent le collagène et l'élastine, fibres de soutien du derme. Protéger ces cellules revient donc à assurer une synthèse relativement continue de ces fibres essentielles à la tenue de la peau.

La présente invention a donc pour objet une composition cosmétique comprenant de l'ubiquitine en association avec un véhicule cosmétiquement acceptable.

La composition cosmétique de l'invention est destinée à être appliquée sur la peau.

De manière avantageuse, l'ubiquitine est présente dans une proportion de 0,001 à 0,1% en poids de la composition, de préférence de 0,005 à 0,5%, de préférence 0,01%.

L'ubiquitine utilisée peut être de n'importe quelle origine, peut être synthétique ou extraite d'un organisme. De préférence, l'ubiquitine est d'origine végétale, et peut par exemple être obtenue à partir de plantes riches en protéines telles que la luzerne, mais aussi de sources céréalières telles que le riz, le blé, des légumes secs tels que le haricot ou le pois.

L'ubiquitine peut notamment être apportée sous la forme d'un extrait végétal, de préférence au moins partiellement purifié, contenant au moins 1 %, de préférence de 1 à 10% en poids par rapport à la matière sèche.

L'ubiquitine peut être extraite à partir de plantes entières, d'organes végétaux particuliers (par exemple graines, feuilles, etc) et/ou de cultures de cellules végétales *in vitro*.

L'extraction peut être réalisée par les solvants classiques d'extraction des protéines, notamment des solutions salines (notamment NaCl). Les méthodes de purification peuvent être envisagées par exemple parmi les techniques suivantes : précipitation fractionnée par des sels (sulfate d'ammonium par exemple) de concentration variable ou par des solvants tels que l'éthanol éventuellement dilué dans l'eau, techniques de séparation, chromatographie préparative d'échange d'ions. Ces techniques peuvent être combinées afin d'obtenir le degré de purification désiré.

Selon un mode de réalisation particulier, on obtient un concentré d'ubiquitine par :

- broyage du végétal (par exemple luzerne), et extraction sous agitation dans un tampon de citrate de sodium, à pH 5. Un inhibiteur de protéase est avantageusement ajouté afin d'éviter la dégradation de l'ubiquitine ;

- filtration de l'extrait et chauffage à 85° C en vue de précipiter les protéines thermolabiles. L'ubiquitine, résistante à la chaleur, reste en solution ;
- séparation du surnageant par centrifugation ou filtration tangentielle sur membranes ;
- nouvelle précipitation par ajout de sulfate d'ammonium ;
- séparation du précipité (par centrifugation) ;
- lavage du précipité récupéré.

Un exemple de purification d'ubiquitine est décrit dans Vierstra et al.,
10. Journal of Biological Chemistry, 1985, 260(22):12015-12021.

Les compositions cosmétiques selon l'invention se présentent de préférence sous la forme d'une émulsion simple huile dans eau ou eau dans huile, ou d'une émulsion multiple, de micro-émulsion, de gel aqueux ou hydroalcoolique, de crème, d'huile, de lotion aqueuse ou hydroalcoolique.

15 L'invention concerne également une méthode de traitement cosmétique, comprenant l'application sur une zone de la peau à traiter, d'une composition cosmétique telle que définie précédemment.

Ces compositions cosmétiques sont particulièrement avantageuses pour lutter contre le vieillissement cutané, à savoir notamment les phénomènes de
20 rides, de perte de tonicité et d'élasticité dus aux modifications structurales de la peau en raison de l'âge.

Les compositions cosmétiques de l'invention sont également utiles pour protéger la peau des agressions extérieures, telles que notamment les rayons ultra-violets ou les pollutions de l'air.

25 Les exemples suivants illustrent l'invention sans en limiter la portée.

EXEMPLE 1 : Formulation d'une crème anti-rides

Ubiquitine	0,01% ou extrait sec contenant 1% d'ubiquitine : 1%
Eau déminéralisée	QSP
Urée	4%
Na 4 EDTA	0,025%
Gluceth-20 stearate	2,5%
Gomme xanthane	0,8%
Propylène glycol	1,5%
Polyglycol 400	5,5%
Huile de pépin de raisin	4,5%
Huile d'amande douce	2%
Huile de cameline	1,5%
Conservateurs	1,5%
Stéarate glycérol	0,5%
Alcool stéarylique	3%
Lécithine de soja	0,1%
Acétate de tocophérol	0,1%
5 cyclométhicone	3%
Extrait hydroglycolique de prêle	5%
Extrait hydroglycolique de noyer	4%
Parfum	0,3%

EXEMPLE 2 : Formulation d'une crème de soin pour la nuit

Ubiquitine	0,01% ou extrait sec contenant 1% d'ubiquitine : 1%
Eau déminéralisée	QSP
Na 4 EDTA	0,025%
Propylène glycol	3%
Lactate de silanol 1%	1,7
Mannuronate de silanol	2,3
D panthénol	0,2%
Gomme xanthane	0,1 %
Stéarate glycérol	2,8%
Stearéth 20	5,5%
Alcool cétylique	3,0%
Cocoate éthyl hexyl	4,0%
Acétate de tocophérol	0,05%
Diméthicone	1,5%
Huile de jojoba	3,0%
Huile de tournesol	3,0%
Beurre de karité	4,5 %
Conservateurs	1,5%
Urée	3,5%
Parfum	0,2%

EXEMPLE 3 : Formulation d'une lotion

Ubiquitine	0,01 ou extrait sec contenant 1% d'ubiquitine : 1
Eau	QSP
EDTA	0,05%
Propylène glycol	2,0%
Conservateurs	1,5%
Alcool	25%
Alcool oléique 20OE	1,0
Parfum	0,05%

REVENDICATIONS

1. Composition cosmétique destinée à être appliquée sur la peau comprenant de l'ubiquitine en association avec un véhicule cosmétiquement acceptable.
5
2. Composition cosmétique selon la revendication 1, dans laquelle l'ubiquitine est présente dans une proportion de 0,001% à 0,1% en poids de la composition.
3. Composition cosmétique selon l'une des revendications 1 ou 2, dans
10 laquelle l'ubiquitine est d'origine végétale.
4. Composition cosmétique selon la revendication 3, dans laquelle l'ubiquitine est sous la forme d'un extrait végétal contenant au moins 1 % d'ubiquitine en poids par rapport à la matière sèche.
5. Composition cosmétique selon l'une des revendications 3 et 4, dans
15 laquelle l'ubiquitine provient de la luzerne.
6. Méthode de traitement cosmétique, comprenant l'application sur une zone de la peau à traiter, d'une composition cosmétique selon l'une des revendications 1 à 5.
7. Utilisation d'une composition cosmétique telle que définie dans l'une
20 des revendications 1 à 5, pour lutter contre le vieillissement cutané et protéger la peau des agressions extérieures.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 43340 A (ZETESIS SPA ;SANTI CESARE (IT); BARTORELLI ALBERTO (IT)) 2 September 1999 (1999-09-02) the whole document	1,2,6,7
X	WO 01 68804 A (BROWN JOSEPH P ;BURMER GLENNA C (US); PRITCHARD DAVID (US); LIFESP) 20 September 2001 (2001-09-20) the whole document	1,2,6,7

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 November 2003

Date of mailing of the international search report

04/12/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Filali, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PO 03/02109

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9943340	A	02-09-1999	IT MI980356 A1	24-08-1999
			AT 208627 T	15-11-2001
			AU 2624499 A	15-09-1999
			CA 2321717 A1	02-09-1999
			DE 69900466 D1	20-12-2001
			DE 69900466 T2	04-04-2002
			DK 1061938 T3	11-02-2002
			WO 9943340 A1	02-09-1999
			EP 1061938 A1	27-12-2000
			ES 2165727 T3	16-03-2002
			JP 2002504517 T	12-02-2002
			PT 1061938 T	29-04-2002
WO 0168804	A	20-09-2001	AU 4909801 A	24-09-2001
			WO 0168804 A2	20-09-2001
			US 2002012927 A1	31-01-2002

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K A61Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 99 43340 A (ZETESIS SPA ;SANTI CESARE (IT); BARTORELLI ALBERTO (IT)) 2 septembre 1999 (1999-09-02) le document en entier ---	1,2,6,7
X	WO 01 68804 A (BROWN JOSEPH P ;BURMER GLENNA C (US); PRITCHARD DAVID (US); LIFESP) 20 septembre 2001 (2001-09-20) le document en entier -----	1,2,6,7

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

G document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 novembre 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

04/12/2003

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Filali, S

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

Document International No

PO 03/02109

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9943340	A	02-09-1999	IT MI980356 A1	24-08-1999
			AT 208627 T	15-11-2001
			AU 2624499 A	15-09-1999
			CA 2321717 A1	02-09-1999
			DE 69900466 D1	20-12-2001
			DE 69900466 T2	04-04-2002
			DK 1061938 T3	11-02-2002
			WO 9943340 A1	02-09-1999
			EP 1061938 A1	27-12-2000
			ES 2165727 T3	16-03-2002
			JP 2002504517 T	12-02-2002
			PT 1061938 T	29-04-2002
WO 0168804	A	20-09-2001	AU 4909801 A	24-09-2001
			WO 0168804 A2	20-09-2001
			US 2002012927 A1	31-01-2002